

肝ミトコンドリアにおける α -アミノレブリンソ酸合成系に関する研究

著者	吉田 威
号	538
発行年	1968
URL	http://hdl.handle.net/10097/18507

氏 名 (本 籍) よし た たけし
吉 田 威

学 位 の 種 類 医 学 博 士

学 位 記 番 号 医 博 第 5 3 8 号

学位授与年月日 昭 和 4 3 年 3 月 2 6 日

学位授与の要件 学位規則第 5 条第 1 項該当

研究科専門課程 東北大学大学院医学研究科
(博士課程) 外科学専攻

学位論文題目 Studies on the δ -aminolevalinate
synthesis system in liver mitochondria
(肝ミトコンドリアにおける δ -アミノレブ
リン酸合成系に関する研究)

(主 査)

論文審査委員 教授 九 嶋 勝 司 教授 菊 地 吾 郎

教授 吉 沢 善 作

論 文 内 容 要 旨

急性特発性ポルフィリン症は、ポルフィリン、ポルフィリンノーゲン、 δ -アミノレブリン酸の排泄増加を特徴とする疾患で、最近、その原因として、ポルフィリン合成の第一段階にあつてコハク酸 CoA とグリシンより δ -アミノレブリン酸をつくる δ -アミノレブリン酸合成酵素の肝における活性が、正常人の数倍になる為であることが、明らかにされた。同様なポルフィリン症を、実験的に、動物にアリルイソプロピルアセトアミド (AIA) やその他の薬物を投与することによつても、起すことが出来る。この実験的ポルフィリン症について、ピュロマイシン、アクチノマイシン等の核酸、蛋白合成阻害剤を用いて行われた研究により、この様な酵素活性の増加は酵素蛋白の新たな合成によるものであることが、明らかにされている。

本酵素の誘導過程には、2つの過程があることが成沢等の研究によつて明らかにされており、したがつて本酵素には、アイソザイムの存在が考えられる。アイソザイムの可能性は Labbe 等の研究によつても示唆されている。Labbe 等は、さらにマウス肝のコハク酸 CoA 合成酵素にもアイソザイムの性質があり、その一つが AIA 投与によつて、 δ -アミノレブリン酸合成酵素の増加に先んじて、正常の 2~3 倍にも増加すると報告し、したがつて、コハク酸 CoA の供給増加もまた δ -アミノレブリン酸合成酵素上昇に影響を与えると考えている。

著者は、以上の諸点を考慮して、ラット肝ミトコンドリアにおける δ -アミノレブリン酸合成系について、更に詳細な検討を行い、次のような成績をえた。

(1) ラットに、AIA を 12 時間毎に皮下に注射することにより、ポルフィリン症を起させ、正常ラットと AIA 投与ラットミトコンドリアのコハク酸 CoA 合成酵素の活性を比較したところ、その活性は共に $450 \mu\text{moles} / \text{mg-protein} / \text{hour}$ 前後であつて、差がなかつた。それらの酵素の pH 依存性も、共に至適 pH を 7、7 にもつ一峰性の曲線を与え、差は認められなかつた。本酵素を肝ミトコンドリアのアセトン粉末から可溶性に抽出して比較した場合でも、pH 依存性はミトコンドリアそのものを用いた場合と同様であり、また酵素の耐熱性についても、両者に差はみとめられなかつた。

(2) ミトコンドリアの内在性の ATP レベルを下げる為、ミトコンドリアを 20 分間 preincubation した後、それに ATP を加えて δ -アミノレブリン酸の合成を行わせると、 δ -アミノレブリン酸生成量は、ATP を加えない場合の 1.5~2 倍になる。この際、正常ラットからのミトコンドリアを用いた場合には、アトラクチロシド添加によつて ATP の添加効果は完全に失われるのに対して、AIA 投与開始後 36 時間たつたラットのミトコンドリアを用いると、

アトラクチロシド添加による活性減少は、20%にすぎなかつた。アトラクチロシド感受性の変化をさらに経時的に検討すると、その感受性は、AIA 投与開始後、 δ -アミノレブリン酸合成酵素活性が高まるにつれて逆に低下していくことが判つた。

(3) AIA ラットと正常アットのアトラクチロシド barrier の異同について検討する為に、クエン酸-1, 5- ^{14}C を基質として α -ケトグルタル酸段階での $^{14}\text{CO}_2$ 放出を比較した。両ミトコンドリアとも、ADP-ヘキソキナーゼ-ブドウ糖系の添加によつて、 $^{14}\text{CO}_2$ 放出は2~3倍大きくなるが、この増加分は、両ラットいずれの場合も、アトラクチロシドによつて完全に失われた。更に、2, 4-ジニトロフェノールによつて促進される ATP_{ase} による ATP の分解を比較したが、この反応においても、両ミトコンドリアの活性は、一様にアトラクチロシドによつておさえられた。したがつて、AIA 投与によつて、アトラクチロシド barrier が崩壊する可能性は考えられない。

(4) 肝ミトコンドリアのアセトン粉末より、 δ -アミノレブリン酸合成酵素を容易に可溶化出来た。正常ラットとAIA ラットよりの可溶化酵素の性質を比較したが、至適 pH はいずれも 7.9 にあり、また pH 活性曲線は一峰性であつた。グリシンに対する K_m も共に 3.4 mM であつた。又ピリドキサル磷酸要求性の点でも、両者に相異をみとめ得なかつた。

以上のように、著者の成績は、コハク酸CoA合成酵素にはアイソザイムがあり、AIA により誘導的に増加するというLabbe等の報告を否定するものであつた。しかし、AIA ラットの肝ミトコンドリアでは、アトラクチロシド barrier は崩壊していないと考えられたにもかかわらず、その δ -アミノレブリン酸合成系が、アトラクチロシドによつて、軽度には影響をうけないことが注目される。これに対する説明としては、第一に、 δ -アミノレブリン酸合成酵素と、コハク酸CoA 合成酵素が、同時にアトラクチロシド barrier の外に誘導的に形成されることも考えられるが、コハク酸CoA 合成酵素が、AIA ラットでも増加していなかつたのであるから、この可能性は否定される。第二に、AIA 投与により多量の δ -アミノレブリン酸合成酵素をもち、アトラクチロシド barrier をもたないミトコンドリアが新たにつくられることが考えられる。この可能性、及び、 δ -アミノレブリン酸合成酵素にアイソザイムが存在するかについては、さらに、今後の研究が必要である。

審 査 結 果 の 要 旨

急性特発性ポルフィリン症と同様なポルフィリン症を、動物にアリルイソプロピルアセトアミド (AIA) を投与することによつて起すことが出来る。この実験的ポルフィリン症における酵素活性の増加は酵素蛋白の新たな合成によるものであることが明らかにされている。本酵素の誘導には、2つの過程があることが明らかにされており、したがつて本酵素には、アイソザイムの存在が考えられ、Labbe等もこれを示唆している。Labbe等は、さらにマウス肝のコハク酸CoA 合成酵素にもアイソザイムの性質があり、その一つがAIA 投与によつて、 δ -アミノレブリン酸合成酵素の増加に先んじて、正常の2~3倍にも増加すると報告し、コハク酸CoAの供給増加もまた δ -アミノレブリン酸合成酵素上昇に影響を与えると考えている。

著者は、ラット肝ミトコンドリアの δ -アミノレブリン酸合成系について、更に詳細な検討を行い、次のような成績をえている。

(1) ラットに、AIA を12時間毎に皮下注射してポルフィリン症を起させ、ラット肝ミトコンドリアのコハク酸CoA 合成酵素の活性を対照と比較したところ、その活性は共に $450 \mu\text{moles}/\text{mg-protein}/\text{hour}$ 前後であつて、差がなかつた。

(2) ミトコンドリアの内在性ATP レベルを下げるため、ミトコンドリアを20分間preincubation した後、それにATP を加えたときの δ -アミノレブリン酸の合成はATP を加えない場合の1.5~2倍になる。この際、正常ラットからのミトコンドリアを用いると、アトラクチロシド添加によつてATP の添加効果は完全に失われる。AIA 投与開始後36時間経たラットのミトコンドリアではアトラクチロシド添加による活性減少は、20%にすぎなかつた。アトラクチロシド感受性の変化をさらに経時的に検討すると、その感受性は、AIA 投与開始後、 δ -アミノレブリン酸合成酵素活性が高まるにつれて逆に低下していくことが判つた。

(3) AIA ラットと正常ラットにつき、クエン酸-1, 5- ^{14}C を基質として α -ケトグルタル酸段階での $^{14}\text{CO}_2$ 放出を比較した。両ミトコンドリアとも、ADP-ヘキソキナーゼ・ブドウ糖系の添加によつて、 $^{14}\text{CO}_2$ 放出は2~3倍大きくなるが、この増加分は、アトラクチロシドによつて完全に失われた。更に、2, 4-ジニトロフェノールによつて促進されるATPase によるATP の分解を比較したが、両ミトコンドリアの活性は、アトラクチロシドによつておさえられた。したがつて、AIA 投与によつて、アトラクチロシドbarrier が崩壊する可能性は考えられない。

(4) 正常ラットとAIA ラットよりの可溶化酵素の性質を比較したが、至適pH はいずれも7.9にあり、またpH 活性曲線は一峰性であつた。グリシンに対する K_m も共に 3.4 mM であつた。又ピリドキサルリン酸要求性の点でも、両者に相異をみとめなかつた。

著者の成績から前記Labbe等の報告は否定された。しかし、AIA ラットの肝ミトコンドリアでは、アトラクチロシドbarrier は崩壊していないと考えられたにもかかわらず、その δ -アミノレブリン酸合成系が、アトラクチロシドによつて、軽度にはしか影響をうけないことが注目される。

以上から、本論文は学位授与に値するものと判定した。